

**NOVEL GROUND KRILL MEAT AND PRODUCTION THEREOF**

Patent Number: JP2100654  
Publication date: 1990-04-12  
Inventor(s): WAKAMEDA ATSUSHI; others: 02  
Applicant(s):: TAIYO FISHERY CO LTD; others: 01  
Requested Patent: ☐ JP2100654  
Application Number: JP19880253476 19881007  
Priority Number(s):  
IPC Classification: A23L1/325 ; A23L1/33 ; C12N9/10  
EC Classification:  
Equivalents:

---

**Abstract**

---

**PURPOSE:** To obtain the subject ground meat excellent in the ability to form boiled fish paste without affecting color, smell and taste of a product by adding a specific amount of a transglutaminase derived from a microorganism to a krill sinew.

**CONSTITUTION:** A transglutaminase derived from a microorganism (preferably produced by a bacterium of the genus *Streptovercillium*) in an amount of 0.1-700u/g protein, preferably 1-140u/g protein is added to a krill sinew preferably in steps after a leaching step to afford the objective ground meat.

---

Data supplied from the esp@cenet database - I2

## ⑫ 公開特許公報(A)

平2-100654

⑪ Int. Cl.<sup>5</sup>

識別記号

庁内整理番号

⑬ 公開 平成2年(1990)4月12日

A 23 L 1/325

1 0 1 B

7732-4B

D

2114-4B

1 0 1 D

7732-4B

B

2114-4B

C 12 N 1/33  
9/10

7823-4B

審査請求 未請求 請求項の数 7 (全10頁)

⑭ 発明の名称 新規なオキアミすり身とその製造法

⑮ 特 願 昭63-253476

⑯ 出 願 昭63(1988)10月7日

⑰ 発 明 者 若 目 田 篤 東京都中央区月島3-2-9 大洋漁業株式会社大洋研究所内

⑱ 発 明 者 市 原 泰 幸 東京都中央区月島3-2-9 大洋漁業株式会社大洋研究所内

⑲ 発 明 者 本 木 正 雄 神奈川県川崎市川崎区鈴木町1番1号 味の素株式会社中央研究所内

⑳ 出 願 人 大洋漁業株式会社 東京都千代田区大手町1丁目1番2号

㉑ 出 願 人 味の素株式会社 東京都中央区京橋1丁目5番8号

㉒ 代 理 人 弁理士 川口 義雄 外3名

## 明細書の浄書(内容に変更なし)

明 細 書

## 1. 発明の名称

新規なオキアミすり身とその製造法

## 2. 特許請求の範囲

(1) オキアミ筋肉に、微生物由来のトランスグルタミナーゼを0.1~700u/g蛋白添加することを特徴とするオキアミすり身の製造法。

(2) 水晒し工程以後の工程でオキアミ筋肉に微生物由来のトランスグルタミナーゼを添加することを特徴とする請求項1のオキアミすり身の製造法。

(3) すり身製造の工程において、肉の温度を10℃以下に保つことを特徴とする請求項1または2記載のオキアミすり身の製造法。

(4) 漁獲後8時間以内のオキアミを原料とすることを特徴とする請求項1または2記載のオキアミすり身の製造法

(5) 添加物として磷酸塩を使用しないことを特徴

とする請求項1または2記載のオキアミすり身の製造法

(6) トランスグルタミナーゼが<sup>ト</sup>スレプトベルチシリウム属の菌によって産生されたものであることを特徴とする請求項1記載のオキアミすり身の製造法。

(7) 請求項1~6のいずれかに記載の方法によって製造された新規なオキアミすり身。

## 3. 発明の詳細な説明

(産業上の利用分野)

本発明は、オキアミ筋肉に微生物由来のトランスグルタミナーゼを作用させて得られる新規なオキアミすり身とその製造法に関する。

(従来の技術)

オキアミすり身は、通常、以下のようにして製造される。即ち、原料となるオキアミから、頭、内臓、殻を除去し、筋肉部位を集めて水晒しを行

ない脱水したのち、添加物を混合してすり身とする。所望により凍結して冷凍すり身とする。

得られた不凍結又は冷凍すり身の品質評価は、通常、すり身から実際にかまぼこを試作し、そのかまぼこの弾力、凹みなどの物性を機械により測定し、所望により色、臭い、味などの官能検査を加えることによって行なわれる。

オキアミすり身の製造は、以上のような方法によって行なわれているが、すけそうだらを原料としたすり身に比べその品質は、非常に低いのが現状である。その理由として、様々な事が考えられるが、オキアミすり身の主成分であるアクトミオシン(あるいはミオシン)が、すけそうだらのそれに比べて数百倍不安定で変性しやすいことがあげられる。即ち、これはすり身の製造工程に於ける温度管理が非常に難しいことを意味する。また、もうひとつの理由としては、オキアミの肝臓

臓から筋肉にプロテアーゼが浸出し易く、一度筋肉に浸潤したプロテアーゼはなかなか除去されない点である。

従って、このオキアミの筋肉蛋白質の不安定性やプロテアーゼの汚染を考慮したすり身の製造方法が求められるが、現時点において有効な方法はない。したがって、なんらかの添加物によってこれらの欠点を補う必要があった。

(発明が解決しようとする問題点)

本発明者は、以上のような経緯に基づき、オキアミすり身の品質、とくにかまぼこ形成能を改良しようとする添加物を種々検討した結果、食品に添加し得るものであり、かつ製品の色、臭い、味に影響をおよぼすことなく、少量で効果の得られる物は見いだせなかった。

(問題点を解決するための手段)

先に述べたような状況において、本発明者は、

更に鋭意研究を続行した結果、トランスグルタミナーゼ(以下、T G a s e と略記することがある。)がオキアミすり身の品質を改善することを見いだした。すなわち、すり身の製造工程においてT G a s e を添加することによって、すり身の品質(主に弾力、保水性、しなやかさ(凹みに関係))が著しく改善されることを知った。

また、通常のすり身には品質改良剤として燐酸塩(主として、かまぼこに凹みと弾力を付与する目的を有する。)が添加される場合が多いが、燐酸塩を添加せずにその代替としてT G a s e を添加した場合でも、通常のすり身とほぼ同等の品質のすり身を製造できることを知った。

更に、T G a s e によりすり身の凍結変性の防止されることも知った。

そして、このような知見に基づいて、本発明を完成した。

T G a s e の添加は、一般的なすり身製造工程のうち、採肉工程から後のどここの工程に加えてもよいが、添加物混合又は水晒しの際に添加するのが实际的であって、こうすることによって簡便な操作で大きな効果を得ることができる。

このようにして得られる魚肉すり身は、通常の魚肉すり身と同様に取り扱うことができ、冷凍保管されて流通におかれる。

本発明の魚肉不凍結又は冷凍すり身の製造法は、採肉工程以後の工程においてオキアミ筋肉にトランスグルタミナーゼを作用させる以外は、従来のすり身の製造法に準ずるので、前記工程以外については特に説明を要するところはない。

トランスグルタミナーゼには、その起源によって種々あり、例えばモルモットの肝臓から分離したもの(以下、M T G a s e と略記することがある)を挙げることができる。前者のM T G a s e

は、例えば、特開昭58-14964号に記載の方法で調製することができる。後者のBTGaseは、昭和62年特願第165067号に係わる新規酵素であって、その酵素特性、製造方等については別項に記載する。本発明で使用するトランスグルタミナーゼは、その酵素的な特徴および安価に大量に入手できることからBTGaseである。

オキアミすり身の製造工程中、添加物混合工程でオキアミ筋肉にトランスグルタミナーゼを添加するには、何らの困難もなく、従来の添加物とともにBTGaseを添加するとよい。一般に、すり身にはその品質を維持するために糖類が添加されるが、BTGaseの効果は糖類の添加によって低下することはない。また、従来の添加物中、燐酸塩は、所望により、従来通り使用してもよく、あるいはこれを部分的に又は全面的にTGaseで代替してもよい。

ナーゼを作用させるには、次のようにする。すなわち、オキアミ筋肉に対し、水を加えた原料肉に対してBTGaseを0.001~5重量部、好ましくは0.01~1重量部を加えて攪拌し、脱水、添加物を混合してすり身とする。使用する水の量は特に制限はないが、原料肉と同量程度から5倍量程度までが望ましい。

因みに、オキアミ筋肉すり身は、そのなかに含まれる蛋白質のうちその殆んどはアクトミオシンであるが、その他水溶性蛋白質、基質蛋白質が微量ながら含まれており、複雑な蛋白質の混合系を成している。従来の知見によれば、すり身から作られる練り製品の弾力や保水性は、アクトミオシンの性質に強く影響を受けることが知られている。したがって、本発明のすり身の製造法において、BTGaseは主にアクトミオシンに作用していると考えられる。すなわち、遊離のミオシンやア

BTGaseの原料オキアミ筋肉への添加量は、0.1~700 u/g 蛋白、好ましくは、1~140 u/g 蛋白である。添加量が少ないと、原料オキアミ筋肉に対するBTGaseの結合量が少なく効果が小さい。また、多過ぎると、BTGaseの効果が極めて早く現われるために攪拌、成型などの加工操作が難しくなること、得られた加工品の品質が低下することを認めた。

このBTGaseの添加量は、BTGaseの酵素活性が2u/mgの場合、原料オキアミ筋肉100重量部に対して0.001~5重量部、好ましくは0.01~1重量部に相当するが、酵素の精製度合いおよび活性の強さによって添加量を加減する。

BTGaseは、MTGaseのようにその活性を発現するための特定物質依存性がないので、MTGaseより使い易い場合も多々ある。

水出し工程でオキアミ筋肉にトランスグルタミ

クチンおよびその両者が結合したアクトミオシンにBTGaseが作用し、該蛋白質を架橋高分子化していると推定される。しかし、アクトミオシン以外の蛋白質についても、BTGaseが作用していることは十分に考えられるので、これらの効果がすべて総合された結果としてすり身の品質が向上されるものと推定される。

(新規トランスグルタミナーゼBTGase)

(1)トランスグルタミナーゼとその由来

トランスグルタミナーゼ(TGase)は、バブチド鎖内にあるグルタミン残基の $\gamma$ -カルボキシアミド基のアシル転移反応を触媒する酵素である。このTGaseは、アシル受容体としてタンパク質中のリジン残基の $\epsilon$ -アミノ基が作用すると、分子内及び分子間に $\epsilon$ -( $\gamma$ -Glu)-Lys架橋結合が形成される。また水がアシル受容体として機能するときは、グルタミン残基が脱

アミド化されグルタミン酸残基になる反応を進行させる酵素である。

T G a s e のこのような性質により、T G a s e を用いてタンパク含有溶液又はスラリーをゲル化させることができる。

T G a s e は、これまでモルモット肝由来のもの (M T G a s e) などの動物由来のものが知られているが、動物由来のものは、安価にまた大量に入手するのが困難であり、タンパク質をゲル化するときには酵素濃度および基質濃度を共に高くする必要があり、また  $\text{Ca}^{2+}$  依存性であるので用途が制限される。

本発明で使用する新規トランスグルタミナーゼ (B T G a s e) は、微生物、例えば、ストレプトベルチシリウム属の菌により産生されるものであるが、微生物由来の T G a s e についての報告は現時点ではない。

これら微生物を培養し、トランスグルタミナーゼを取得するための培養法及び精製法等は次の通りである。

培養形態としては、液体培養、固体培養いずれも可能であるが、工業的には深部通気攪拌培養を行うのが有利である。又、使用する培養源としては、一般に微生物培養に用いられる炭素源、窒素源、無機塩及びその他の微量栄養源の他、ストレプトベルチシリウム属に属する微生物の利用出来る栄養源であれば全て使用出来る。培地の炭素源としては、ブドウ糖、ショ糖、ラスターゲン、グリセリン、デキストリン、澱粉等の他、脂肪酸、油脂、有機酸などが単独で又は組合せて用いられる。窒素源としては、無機窒素源、有機窒素源のいずれも使用可能であり、無機窒素源としては硝酸アンモニウム、硫酸アンモニウム、尿素、硝基ソーダ、塩化アンモニウム等が挙げられる。又、

本発明で使用する微生物由来の B T G a s e は安価に供給され、かつ精製も容易であるので実用性が大である。また、B T G a s e を用いることにより、カルシウム非存在下又カルシウム存在下のいずれでも酵素 (B T G a s e) 濃度及び基質濃度が非常に低いところで品質の優れたゲル化物を製造できるという利点がある。

#### 例 B T G a s e の製造

B T G a s e を産生する微生物は、例えば、ストレプトベルチシリウム・グリセオカルネウム (*Streptovercillium griseocarneum*) I F O 12776、ストレプトベルチシリウム・シナモネウム・サブ・エスピー・シナモネウム (*Streptovercillium cinnamoneum* sub sp. *cinnamoneum*) I F O 12852、ストレプトベルチシリウム・モバラエンス (*Streptovercillium mobaraense*) I F O 13819等があげられる。

有機窒素源としては大豆、米、トウモロコシ、小麦などの粉、餅、脱脂粕をはじめコーンステイプリカー、ペプトン、肉エキス、カゼイン、アミノ酸、酵母エキス等が挙げられる。無機塩及び微量栄養素としては、リン酸、マグネシウム、カリウム、鉄、カルシウム、亜鉛等の塩類の他ビタミン、非イオン界面活性剤、消泡剤等の菌の生育や B T G a s e の産生を促進するものであれば必要に応じて使用出来る。

培養は好氣的条件で、培養温度は菌が発育し B T G a s e が産生する範囲であれば良く、好ましくは 25~35℃ である。培養時間は、条件により異なるが、B T G a s e が最も産生される時間まで培養すれば良く、通常 2~4 日程度である。

B T G a s e は液体培養では培養液中に溶解されており、培養終了後培養液より固形分を除いた培養ろ液より採取される。

培養ろ液よりBTGaseを精製するには、通常酵素精製に用いられるあらゆる方法が使用出来る。

例えば、エタノール、アセトン、イソプロピルアルコール等の有機溶媒による処理、硫酸、食塩等により塩析、透析、膜外ろ過法、イオン交換クロマトグラフィー、吸着クロマトグラフィー、ゲルろ過、吸着剤、等電点分離等の方法が使用出来る。又、これらの方法を適当に組合せる事によりBTGaseの精製度が上がる場合は適宜組合せて行う事が出来る。これらの方法によって得られる酵素は、安定化剤として各種の脂類、醣類、蛋白質、脂質、界面活性剤等を加え或いは加えることなく、膜外ろ過濃縮、逆浸透濃縮、減圧乾燥、凍結乾燥、噴霧乾燥の方法により液状又は固形のBTGaseを得ることが出来る。

5%  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (0.1N-HClに溶解)

上記溶液の1:1:1の混合液を試薬Bとする。

酵素液の0.05mlに試薬A 0.5mlを加えて混合し37℃で10分間反応後、試薬Bを加えて反応停止とFe錯体の形成を行った後525nmの吸光度を測定する。対照としてあらかじめ熱失活させた酵素液を用いて同様に反応させたものの吸光度を測定し、酵素液との吸光度差を求める。別に酵素液のかわりにL-グルタミン酸γ-モノヒドロキサム酸を用いて検量線を作成し、前記吸光度差より生成されたヒドロキサム酸の量を求め、1分間に1μモルのヒドロキサム酸を生成する酵素活性を1単位とした。

#### ④ BTGaseの酵特性

上のようにして得られる精製BTGase、即

BTGaseの活性測定はベンジルオキシカルボニル-L-グルタミンリグリンとヒドロキシルアミンを基質として $\text{Ca}^{2+}$ 非存在下で反応を行い、生成したヒドロキサム酸をトリクロロ酢酸存在下で鉄錯体を形成させ525nmの吸収を測定し、ヒドロキサム酸の量を検量線より求め活性を算出する。

BTGase活性は、特に記載しないかぎり以下に記載する方法により測定した。

#### 〈活性測定法〉

試薬A 0.2M トリス塩酸緩衝液 (pH 6.0)  
0.1M ヒドロキシルアミン  
0.01 M還元型グルタチオン  
0.03 Mベンジルオキシカルボニル-L-グルタミンリグリン  
試薬B 3N-塩酸  
12%-トリクロロ酢酸

ちストレプトベチシリウム・モバランスIFO 13819のトランスグルタミナーゼ(BTG-1と命名)、ストレプトベルチシリウム・グリセオカルネウムIFO 12776のトランスグルタミナーゼ(BTG-2と命名)、ストレプトベルチシリウム・シナモネウム・サブ・エスピー・シナモネウムIFO 12852のトランスグルタミナーゼ(BTG-3と命名)についての酵素化学的性質は次の通り。

#### a) 至適 pH:

基質としてベンジルオキシカルボニル-L-グルタミンリグリンとヒドロキシルアミンを使用した場合、37℃、10分反応で、BTG-1の至適pHは6~7にあり、BTG-2の至適pHは6~7付近にあり、BTG-3の至適pHは6~7付近にある。

## b) 至適温度:

基質としてベンジルオキシカルボニル-L-グルタミンイルグリシンとヒドロキシルアミンを使用した場合、pH 6、10分反応で、BTG-1の至適温度は55℃付近であり、BTG-2の至適温度は45℃付近であり、BTG-3の至適温度は45℃付近にある。

## c) pH安定性:

37℃、10分間処理で、BTG-1はpH 5~9で安定であり、BTG-2はpH 5~9で安定であり、BTG-3はpH 6~9で安定である。

## d) 温度安定性:

pH 7で10分間処理では、BTG-1は40℃では88%活性が残存し、50℃では74%活性が残存し、BTG-2は40℃では86%活性が残存し、50℃では56%活性が残存し、BTG-3は40℃で80%活性が残存し、50℃では53%活性が残存する。

## e) 基質特異性:

各BTGaseを用い、各種合成基質とヒドロキシルアミンとの反応を調べた。いずれのBTGaseも合成基質がベンジルオキシカルボニルアスパラギニルグリシン、ベンジルオキシカルボニルグルタミン、グリシルグルタミンイルグリシンの縮合反応しない。しかし合成基質がベンジルオキシカルボニルグルタミンイルグリシンの場合の反応性は最も高い。この時の各種合成基質濃度は5 mMとした。結果は表-1に示される。

なお、表-1中のCBZはベンジルオキシカルボニル基の略であり、Glnはグルタミン基の略であり、Glyはグリシル基の略であり、Aspはアスパラギン基の略である。

表-1

基 質	BTG-1	BTG-2	BTG-3
	%	%	%
CBZ-Gln-Gly	100	100	100
CBZ-Gln-Gly-oEt	63	44	42
CBZ-Gln-Gln-Gly	38	39	35
CBZ-Gly-Gln-Gly-Gly	8	12	11
CBZ-Gly-Gly-Gln-Gly	23	58	60
CBZ-Gln	0	0	0
CBZ-Asp-Gly	0	0	0
Gly-Gln-Gly	0	0	0

## f) 金属イオンの影響:

活性測定系に1 mM濃度になるように各種金属イオンを加えて影響を調べた(結果は表-2に示される)。いずれのBTGaseも $\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{Zn}^{2+}$ により活性が阻害される。

表-2

金 属 イ オン	BTG-1	BTG-2	BTG-3
	%	%	%
None	100	100	100
$\text{CaCl}_2$	101	102	102
$\text{BaCl}_2$	101	99	105
$\text{CoCl}_2$	103	103	103
$\text{CuCl}_2$	79	82	86
$\text{FeCl}_3$	96	104	106
$\text{KCl}$	96	99	105
$\text{MgCl}_2$	102	104	103
$\text{MnCl}_2$	98	97	97
$\text{NaCl}$	99	102	101
$\text{NiCl}_2$	102	100	101
$\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$	97	97	100
$\text{SrCl}_2$	100	101	100
$\text{ZnCl}_2$	15	24	24

## g) 阻害剤の影響:

各阻害剤を 1 mM になるように加え、25℃、30 分放置後、活性を測定した(結果は表-3に示される)。いずれのBTGaseもパラクロロマーキュリー安息香酸(PCMBと略する)、N-エチルマレイミド(NEMと略する)、モノヨード酢酸により活性が阻害される。

表-3

阻 害 剤	BTG-1	BTG-2	BTG-3
	%	%	%
None	100	100	100
EDTA	102	98	99
PCMB	54	61	63
NEM	5	5	3
モノヨード酢酸	64	50	67
PMSF	104	95	101

表-3中PMSFはフェニルメチルスルホニ

には $Ca^{2+}$ の活性に及ぼす影響を示す。表-4および表-5より明らかのように従来主として研究されているMTGaseと放線菌由来のBTGaseとは酵素化学的性質において種々の差が見られ、特に温度安定性、分子量、等電点、基質特異性に差が見られる。また、 $Ca^{2+}$ の存在下及び非存在下においてもBTGaseは作用する点等でもMTGaseとは明らかな差がみられる。従って、BTGaseの各酵素はMTGaseとはその性質を異にするものと考えられる。

ルフルオリドの略である。

## h) 等電点:

アンホライン等電点電気泳動により求めたところ、BTG-1の等電点 pI は 9 付近であり、BTG-2の等電点 pI は 9.7 付近であり、BTG-3の等電点 pI は 9.8 付近である。

## i) 分子量:

SDSディスク電気泳動法より求めたところ、BTG-1の分子量は約38,000であり、BTG-2の分子量は約41,000であり、BTG-3の分子量は約41,000である。

## j) MTGaseとの比較:

次にBTGaseとモルモット肝由来のトランスグルタミナーゼ(MTGase)との性質を比較する。尚、MTGaseは、特開昭 58-149645号に記載された方法で調製した。

表-4には各酵素化学的性質の比較を、表-5

表-4

	BTG-1	BTG-2	BTG-3	MTGase
至適 pH	6~7	6~7	6~7	6
pH安定性	5~9	5~9	6~9	6~7.5
至適温度	55℃付近	45℃付近	45℃付近	50~55℃
温度安定性(%)				
40℃残存率	88	86	80	96
50℃残存率	74	56	53	40
分子量	約38,000	約41,000	約41,000	約90,000
等電点	9.0	9.7	9.8	4.5
基質特異性(%)				
CBZ-Gln-Gly	100	100	100	100
CBZ-Gln-Gly- $\alpha$ -I	63	44	42	122
CBZ-Gln-Gln-Gly	38	39	35	288
CBZ-Gly-Gln-Gly-Gly	8	12	11	126
CBZ-Gly-Gly-Gln-Gly	23	58	60	27

表 - 5

金属イオン	BTG-1	BTG-2	BTG-3	MTGase
	%	%	%	%
None	99	98	100	0
1mM $\text{CaCl}_2$	100	100	99	39
5mM $\text{CaCl}_2$	100	100	98	100

## 4) BTGaseの製造例

## a) BTG-1の製造

ストレプトベルチシリウム・モバラエンスI F O 13819を培地組成ポリペプトン 0.2%、グリコース 0.5%、リン酸ニカリウム 0.2%、硫酸マグネシウム 0.1%からなる培地 (pH 7) 200mlに接種し、30℃、48時間培養し、得られた種培養液をポリペプトン 2.0%、ラスターゲン 2.0%、リン酸ニカリウム 0.2%、硫酸マグネシウム 0.1%、酵母エキス 0.2%、消泡剤としてアデカノール (商品名、旭電化社製品) 0.05%からなる培地20

Mリン酸緩衝液 (pH 7) で緩衝液を用いて平衡化させた。

得られた濃縮液を同緩衝液で予め平衡化しておいたセファデックスG-75 (ファルマシアファインケミカル社製) を含むカラムに通し、同緩衝液を流して溶出液を分離した。この結果活性画分は単一のピークとして溶出された。このものの比活性は、培養液に対し 625倍であり、回収率は47%であった。

## b) BTG-2の製造

BTG-1の場合と同様にして、ストレプトベルチシリウム・グリセオカルネウム I F O 12776を30℃で3日間培養後ろ過し、培養液19mlを得た。このものの活性は0.28u/mlであった。

BTG-1の場合と同様な方法で酵素を精製して、SDSディスク電気泳動で単一の酵素をえた。

2 (pH 7) に加え30℃で3日間培養後ろ過し、培養液18.5mlを得た。このものの活性は、0.35u/mlである。

培養液を塩酸で pH 6.5 に調整し、予め0.05Mリン酸緩衝液 (pH 6.5) で平衡化しておいたCG-50 (商品名、オルガノ社製品) のカラムに通した。この操作でトランスグルタミナーゼは吸着された。さらに同緩衝液で不純蛋白質を洗い流した後、さらに0.05~0.5 Mの同緩衝液の濃度勾配をつくり、通液して溶出液を分離回収し、比活性の高い画分を集めた。電導度を10ms以下になるように希釈後ブルーセファロースのカラムに通した。この操作でトランスグルタミナーゼは吸着された。更に0.05Mリン酸緩衝液 (pH 7) で不純蛋白質を洗い流した後、0~1 Mの食塩濃度勾配をつくり通液して溶出液を回収し比活性の高い画分を集めた。UF6000膜を使い濃縮し、0.5Mの食塩を含む0.05

## c) BTG-3の製造

BTG-1の場合と同様にして、ストレプトベルチシリウム・シナモネウム・サブ・エスピー・シナモネウム I F O 12852を30℃で3日間培養後ろ過し、培養液18.5mlを得た。このものの酵素活性は0.5u/mlであった。

BTG-1の場合と同様な方法で酵素を精製して、SDSディスク電気泳動で単一の酵素を得た。

以下、実施例を掲げて本発明を更に説明する。なお、本実施例においては、BTG-1を主に用いたが、BTG-2およびBTG-3についても、BTG-1とほぼ同様な結果が得られた。

## (実施例)

実施例に於いて、かまぼこ形成能はレオメーターで次のように測定し、また、部は重量部である。

弾力：弾力及び凹みの測定は、レオメーター及び凹み (フドー工業社製) で、5φプランジ

ャーを用いて測定した。サンプルの形状は、直径23mm、高さ30mm。プランジャーをかまぼこに押し込んだときに、かまぼこが破断するのに要する力を弾力(g)破断するまでに移動したプランジャーの距離を凹(mm)として表わした。

保水性：一般的に、すり身に水を加えると、かまぼこの弾力と凹みは低下する。すり身に水を加え、弾力が約800gになるように調整する。このとき加えた水の量が多いほどそのすり身の保水性は高いとする。

#### 実施例1

水揚げ直後のオキアミの100部から頭、内蔵、殻を除去し、残った筋肉(オキアミの尻肉に相当し、むき身と呼ぶ)を集めて、むき身の3倍量の清水

を加え、3分間攪拌した後脱水した。この脱水肉に添加物として砂糖4部、ソルビトール4部、燐酸塩0.2部(トリポリ燐酸塩およびピロ燐酸塩を1対1で混合したもの)、BTG-1を0.02部くわえて混合、凍結して冷凍すり身とした。対照は、BTG-1を含まないものとした。

(イ) 両試作すり身のそれぞれ100部に対して食塩3部を加え、攪拌機でよく攪拌した。攪拌したすり身はケーシングに詰め、<sup>25</sup>℃で1時間座らせた後、90℃の湯浴中で20分間加熱し、水冷した。このようにして得られたものは一種のかまぼこであって、このものについて物性を測定した。

(ロ) 一方、前記両試作すり身をそれぞれ-30℃にて凍結して冷凍すり身とし、-20℃で1か月間貯蔵したのち解凍して、(イ)と同様にしておかまぼこを調製し、このものについて物性を測定した。

表-1

原 料	弾 力 (g)		凹 み (mm)	
	凍結前	凍結後	凍結前	凍結後
本発明のすり身	670	651	11.2	11.2
対照のすり身	270	243	8.1	7.9

表1の結果よりBTG-1を添加したものは、若しく弾力と凹みが改善され、好ましい品質のすり身であった。

#### 実施例2

水揚げ直後のオキアミから実施例1の方法で得たむき身を2~30℃の温度で4時間保管し、実施例1に従って、BTG-1を添加したすり身を6検体得た。

各すり身の品質を表-2に示した。

表-2

保管温度(℃)	弾 力 (g)	凹 み (mm)
2	638	12.9
5	659	12.9
10	629	12.3
15	480	9.2
20	352	8.8
30	170	7.0

この結果より、オキアミの保管温度は低い方が望ましく、好ましくは10℃以下であることが分かる。

#### 実施例3

実施例1で得たオキアミ脱水肉に以下のような添加物を加えてよく混合したすり身を製造し、-20℃で1か月間貯蔵したのち、解凍してその品質を測定した。

リンプル番号 添 加 物

- 1 ソルビトール 8部
- 2 ソルビトール 8部、磷酸塩 0.2部
- 3 ソルビトール 8部、B T G 0.02部

表-3

原 料	弾 力 (g)	凹 み (mm)
1	260	8.1
2	280	8.2
3	690	10.7

## 実施例 4

実施例 1 の方法で製造した本発明の冷凍すり身を同じく -20℃ で 1 か月間貯蔵した後回答し、すり身 100部に対して水 40部を加え、その全体量に対し、3部の食塩を加え、撹拌機でよく撹拌し、実施例 1 (イ) に従ってかまぼこを調製し、品質を評価した。

また、対照の冷凍すり身には解凍後水を 5部加

えて同様にかまぼこを調製し、その品質を比較した。結果を表 4 に示した。

表-4

原 料	弾 力 (g)	凹 み (mm)
本発明のすり身	279	9.0
対照のすり身	211	7.5

以上の結果から、本発明のすり身は対照にくらべ、より多くの水を保つことが明らかとなった。  
(発明の効果)

本発明により従来のオキアミすり身に比較し、全く新しいすり身の製造が可能となった。即ち本法によって、オキアミすり身の著しい品質向上が認められ、今後は、オキアミ資源の有効な活用法の 1つを提供するものとなる。

## 手続補正書

昭和 63 年 11 月 15 日

特許庁長官 古 田 文 殿

1 事件の表示 昭和 63 年特許願第 253476 号

2 発明の名称 新規なオキアミすり身とその製造法

3 補正をする者  
事件との関係 特許出願人

名 称 大洋漁業株式会社

(ほか 1 名)

4 代 理 人 東京都新宿区新宿 1 丁目 1 番 14 号 山田ビル  
(郵便番号 160) 電話 (03) 354-8623  
(6200) 弁理士 川 口 義  
(ほか 3 名)

5 補正命令の日付 自 発

6 補正により増加する請求項の数

7 補正の対象 明細書及び委任状

8 補正の内容

- (1) 正式明細書を別紙の通り補充する。(内容に変更なし)
- (2) 委任状 [(006) 味の素株式会社] を別紙の通り補充する。

63.11.16